

УДК 616–006.66

**МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ СА-125 И MISRII –
ПОВЕРХНОСТНЫХ МАРКЕРОВ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЯИЧНИКОВ****А.Я. Рак, А.В. Трофимов, А.М. Ищенко***ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов»
ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия*

Рак яичников является самой смертоносной онкогинекологической патологией [1]. Это заболевание по праву называют «тихим убийцей», поскольку чаще всего оно развивается бессимптомно [2]. К моменту постановки диагноза у пациенток уже выявляется обширное, быстро прогрессирующее асцитное поражение брюшной полости [2], поэтому крайне важно выявить рак яичников на самых ранних стадиях. Этому способствует проведение иммуногистохимического анализа после первичного скрининга на онкомаркеры, которое позволяет не только подтвердить наличие опухолевых клеток, но и оценить морфологию опухоли. Известно, что гиперэкспрессия муцина СА-125 наблюдается более чем в 85 % случаев опухолей яичника [3], а рецептора антимюллерова гормона II типа (MISRII) – в 75 % [4]. По этой причине наиболее информативной представляется параллельная детекция данных поверхностных маркеров. Более того, показано, что взаимодействие некоторых специфических антител с MISRII способно индуцировать в опухолевых клетках проапоптотический сигнальный каскад, и таким образом, ряд антител к этому маркеру может быть использован не только для детекции, но и для терапии онкопатологии [5]. В данной работе была исследована возможность использования ранее полученных мышиных моноклональных антител против трансмембранных белков СА-125 и MISRII для проведения иммуногистологического анализа присутствия этих маркеров на клетках аденокарциномы яичника.

В исследовании использован гистологический материал, предоставленный ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, и ранее полученные в лаборатории мышиные моноклональные антитела. Образцы опухолевой ткани фиксировали 10 % нейтральным забуференным формалином, затем проводили по спиртам и заключали в парафин по стандартной методике. Из полученных блоков были изготовлены срезы толщиной 5 мкм, которые монтировали на предметные стекла, депарафинизировали, промывали водой и затем в течение часа обрабатывали блокирующим раствором (2 % бычьего сывороточного альбумина в 20 мМ фосфатном буфере, pH 7,4). Далее на 1,5 ч вносили раствор первичных антител в блокирующем буфере (5 мкг/мл). После трехкратной отмывки фосфатным буфером, содержащим 0,05 % Твин-20, срезы обрабатывали раствором GAM-Px – антител козы против Fc-фрагмента иммуноглобулинов IgG мыши (Sigma, США), конъюгированных с пероксидазой хрена (в разведении 1:4000). Спустя 1 ч срезы отмывали, споласкивали водой и проявляли окрашивание раствором диаминобензидина (0,05 %) в фосфатном буфере с добавлением 1 % диметилсульфоксида и 1 % перекиси водорода.

anti-MISRII + GAM-Px



anti-IFNg + GAM-Px

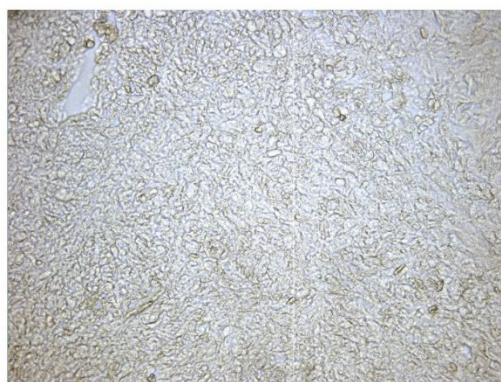
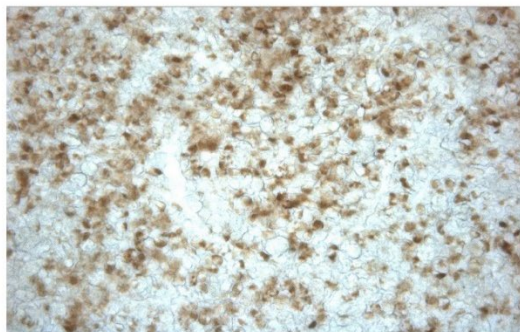


Рисунок 1. Иммуногистологический анализ срезов аденокарциномы яичника, обработанных антителами против поверхностных маркеров MISRII и СА-125 (слева) и в качестве негативного контроля – антителами против гамма-интерферона и интерлейкина-6 человека (справа)

anti-CA-125 + GAM-Px



anti-IL-6 + GAM-Px

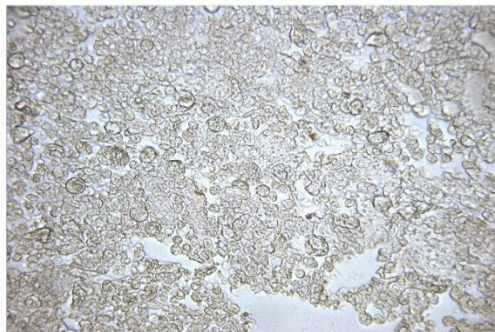


Рисунок 1. Продолжение

Результаты иммуногистохимического анализа представлены на рисунке 1. Видно, что окрашивание контрольных срезов (обработаны первичными антителами против гамма-интерферона и интерлейкина 7 человека) является отрицательным. В то же время с помощью антител против MISRII и CA-125 на срезах выявлены диффузно локализованные опухолевые клетки. Интенсивность неспецифического фоновое окрашивания при этом является низкой.

Таким образом, полученные нами мышиные моноклональные антитела против поверхностных маркеров MISRII и CA-125 могут быть использованы для иммуногистохимической диагностики онкогинекологических заболеваний и характеристики морфологии опухолей.

ЛИТЕРАТУРА

Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer statistics, 2019 //CA: a cancer journal for clinicians. – 2019. – Vol. 69. – №. 1. – P. 7–34.

Barnholtz-Sloan J.S. et al. Ovarian cancer: changes in patterns at diagnosis and relative survival over the last three decades //American journal of obstetrics and gynecology. 2003. Vol. 189. №. 4. P. 1120–1127.

Van der Burg M.E., Lammes F.B., Verweij J. CA 125 in ovarian cancer //The Netherlands journal of medicine. – 1992. – Vol. 40. – №. 1–2. – P. 36–51.

Bakkum-Gamez J.N. et al. Müllerian inhibiting substance type II receptor (MISIIR): a novel, tissue-specific target expressed by gynecologic cancers //Gynecologic oncology. 2008. Vol. 108. №. 1 P. 141–148.

Estupina P. et al. The anti-tumor efficacy of 3C23K, a glyco-engineered humanized anti-MISRII antibody, in an ovarian cancer model is mainly mediated by engagement of immune effector cells //Oncotarget. – 2017. – Vol. 8. – №. 23. – P. 37061–37079.